DOI:10.11931/guihaia.gxzw202212009

锦绣杜鹃花药发育及散粉孔形成的形态与解剖学研究

马海英[1*]， 杨瑞[2]，杨柳[1]，丁开宇[1]
（1. 云南大学 生态与环境学院, 昆明 650504； 2 云南大学 生命科学学院, 昆明 650504）

摘要：被子植物中部分类群的花药开裂方式为孔裂，人们对此类花药的发育与散粉孔的形成及散粉机制了解甚少。杜鹃属(*Rhododendron*)植物的花药普遍为顶孔开裂，该研究通过对锦绣杜鹃(*Rhododendron* × *pulchrum* Sweet)进行解剖观察和石蜡切片，探究其花药的发育和散粉孔的形成及散粉机制。结果表明：（1）锦绣杜鹃花药顶端成孔区与花药主体具有不同的组织构成，成孔区由薄壁组织构成，起源于雄蕊原基顶端的分生组织，花粉成熟时薄壁细胞分解成为散粉孔；花药的主体由孢原细胞发育而来，孢原细胞经多次分裂分化成为具多层花药壁的花粉囊。（2）锦绣杜鹃的花药壁在小孢子母细胞至小孢子四分体时期发育完全，有6~7 层细胞，包括 1 层表皮、2~3 层药室内壁、1~2 层中层和 1 层绒毡层，中层在小孢子四分体形成后即分解，绒毡层在花粉完全成熟前分解消失，花药壁在花粉成熟时还有表皮和2~3 层药室内壁。（3）与纵裂型花药不同，锦绣杜鹃的药室内壁在花粉成熟时不发生纤维化，而是积累多糖而增厚，具有韧性和弹性。（4）锦绣杜鹃花粉发育过程中小孢子母细胞产生的四个小孢子不分离，成熟花粉为四合花粉，花粉间具有粘丝。推测锦绣杜鹃具多层药室内壁且加厚可使花粉囊空间缩小，从而将上部花粉“挤出”散粉孔，而花粉间的粘丝使昆虫传粉时可将花粉成团带出,其药室内壁多层且积累多糖是与顶孔开裂相适应的特征。

关键词：杜鹃属，锦绣杜鹃，雄蕊发育，孔裂，药室内壁，薄壁组织

中图分类号： **文献标识码：**A 文章编号：

Anther development and formation of dehiscence pore in *Rhododendron* × *pulchrum* Sweet

MA Haiying[1*], YANG Rui[2], YANG Liu[1], DING Kaiyu[1]
（1. *School of Ecology and Environmental Science*, *Yunnan University*, Kunming 650504, China;
2. *School of Life Sciences*, *Yunnan University*, Kunming 650504, China）

Abstract: Flowers of *Rhododendron* have unique poricidal dehiscence anther, but the formation of the dehiscence pore and the mechanism of pollen releasing are not known. The purpose of this research was to study the anther development of *Rh.* × *pulchrum* Sweet through microdissection and paraffin section to find out how the dehiscence pore develops and what tissues are involved in its development. The results were as follows: (1) The tissue forming the apical pore and the main body of the anther diverged from the very beginning of the stamen development. The dehiscence

---

基金项目：国家自然科学基金（31060029）Supported by NSFC（31060029）。

第一作者：马海英 (1971-), 博士，副教授，研究方向为植物形态与系统分类，（E-mail）mahy@ynu.edu.cn。
*通信作者

pore is formed by breaking down of parenchyma tissue, which is derived from the apical meristem of stamen primordium. The body part of the anther comes from the archesporial cells and they develop into regular pollen sacs with multi-layered anther walls. (2) The anther wall is fully differentiated at the stages from microspore mother cell to microspore tetrad and it consists of 6–7 layers: 1 layer of epidermis, 2–3 layers of endothecia, 1–2 layers of middle layers and 1 layer of tapetum. The middle layers soon break down after completion of microspore tetrads and the tapetum disappears before the pollen tetrads are fully mature. The epidermis and 2~3 layers of endothecia remain to the end; (3) Unlike those of longitudinal dehiscent anthers, the endothecia of *Rh.* × *pulchrum* are not fibrous at maturation. Instead, they are persistent and somewhat elastic through accumulation of polysaccharide granules in cells; (4) The four microspores produced by one microspore mother cell do not separate from each other and the pollens are released as tetrads, with viscous threads between pollens and among tetrads. The authors assume that the thickened multi-layer endothecia reduced the inner volume of the pollen sacs, therefore the pollen tetrads at the top are "squeezed out" from the dehiscence pore, and the viscous threads allow the pollen tetrads to be pulled out in clumps by pollinators.

Keywords: *Rhododendron*，*Rhododendron* × *pulchrum*，anther development，poricidal dehiscence，endothecium, parenchyma

花药是雄蕊的重要组成部分，含有与花粉粒形成及释放有关的生殖和营养组织。成熟的花药适时开裂，才能释放花粉，从而保证传粉与受精过程的顺利进行(丁泽琴等，2013)。被子植物中花药的开裂方式共有四种：纵裂、横裂、孔裂和瓣裂。绝大部分植物的花药为纵裂(Endress,1996)；横裂见于部分锦葵科植物（马炜梁，2015），横裂实际上与纵裂相似，只是开裂方向与花药纵轴垂直，因此有些学者并不把横裂作为一种单独的类型（Endress, 1996）；孔裂见于杜鹃花科(Hermann & Palser, 2018)、野牡丹科(Renner, 1989; Cortez et al., 2014)、部分茄科植物(Garcia et al., 2008)和部分豆科植物(Marazzi et al., 2007)；花药瓣裂出现于小檗科(Batygina, 2002)、金缕梅科(Huford & Endress, 1989)和木兰类的一些类群中(Huford and Endress, 1989)。

纵裂是最普遍的花药开裂方式。花药纵裂的过程和机制已经非常清楚，花药壁在发育过程中中层和绒毡层先后分解消失，药室内壁发生纤维化，但在两个花粉囊之间的交界处有几个不加厚的细胞，称为唇细胞，花药成熟时由此开裂形成裂缝（周云龙和刘全儒，2004），研究表明裂口的形成是由许多基因调控的细胞凋亡导致的若干细胞逐渐分解的过程(Reape et al., 2008)。

花药孔裂仅出现于少数类群，因此研究较少。Garcia et al. (2008)和 Cortez et al. (2014)分别对茄科茄属(*Solanum*)和野牡丹科绢木属(*Miconia*)的花药孔裂分别进行了研究，两个科中花药顶孔或裂口部位的花药壁都只有一层细胞，这层细胞分解或断裂后形成了顶孔，而顶孔周围的花药壁由多层细胞构成，具有表皮和药室内壁。Hermann & Palser(2018)对杜鹃花科多个种属的成熟花药结构进行研究，发现这些种类花药的顶孔部位都没有表皮和药室内壁，而是两种薄壁组织——吸收组织（resorption tissue）和塌陷组织（collapse tissue）。

以上研究结果一定程度上揭示了孔裂型花药散粉孔的解剖结构和组织构成,但这些研究主要集中观察顶孔开裂前和开裂时的结构，没有揭示完整的散粉孔发育过程。为什么散粉孔处的解剖结构和周围花药壁的结构不同，它们的解剖结构差别究竟源于何时，是否来源于相同的组织，发育的过程如何，散粉孔形成后如何散粉等，都没有完整地解答。由于散粉孔的形成是整个雄蕊发育过程的一部分，尤其与花药壁的发育密切相关，因此对雄蕊发育的全过程进行研究才能完整揭示顶孔的发育过程。

杜鹃花科是一个花药孔裂的代表科，有的是典型的顶孔开裂，有的散粉孔在侧面，还有一些是形成裂缝(Hermann & Palser, 2018)。该科种类较多，全科约有 125 属 4 000 种(Fang et al., 2005), 其中种类最多的是杜鹃花属（*Rhododendron*），全世界共约 1 000 种，我国产 571 种 (Fang et al., 2005)，其中大多数是特有种（马宏等，2017)。杜鹃花属具有典型的顶孔开裂型花药，此前关于杜鹃花属雄蕊发育的研究很少，仅在 Hermann & Palser (2000，2018)的研究中涉及一两种，且无详细过程。国内张玉红 (2014) 和戴利燕 (2018)研究了杜鹃属中另一个常见种映山红（*Rh. simsii* Planch）的雄蕊发育过程，但没有涉及顶孔的发育。锦绣杜鹃（*Rhododendron* × *pulchrum* Sweet）是杜鹃属中广为栽培的种类，花多量大，取材容易，容易获得各时期的雄蕊用于研究，因此我们对其进行雄蕊发育的形态学观察和解剖学研究，以探究散粉孔的形成过程和散粉机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料锦绣杜鹃(*Rhododendron* × *pulchrum* Sweet)，采自云南大学呈贡校区。

1.2 实验方法

1.2.1 锦绣杜鹃雄蕊发育外部形态观察

取锦绣杜鹃花蕾、幼花直至顶孔开裂的雄蕊，在尼康体视显微镜下用解剖针小心剥去花的苞片、萼片和花瓣，仅留下花芽顶端以及雄蕊，在尼康体视显微镜下观察拍照。

1.2.2 锦绣杜鹃雄蕊发育组织形态观察

用普通石蜡切片法对不同发育时期的花蕾及单独的雄蕊进行切片观察。从 2022 年 2 月至 2022 年 6 月，采集不同发育时期的锦绣杜鹃花蕾和花朵，固定于 FAA 固定液(50%酒精∶冰醋酸∶甲醛 ＝90∶5∶5) 中，系列酒精浓度脱水，常规石蜡切片法制片，切片厚度为 8 μm，番红固绿染色，中性树胶封片，参考植物组织制片学的方法(李正理，1987)。在 Olympus B51 显微镜下进行镜检和照相。花药的发育类型判断按照被子植物生殖生物学标准(胡适宜，2005)。

一般雄蕊发育的研究只进行横切观察，因我们要观察其顶端散粉孔的形成，所以我们对雄蕊同时进行横切和纵切实验，且纵切还采用多个方向的切面，以全面观察散粉孔的发生和发育过程。

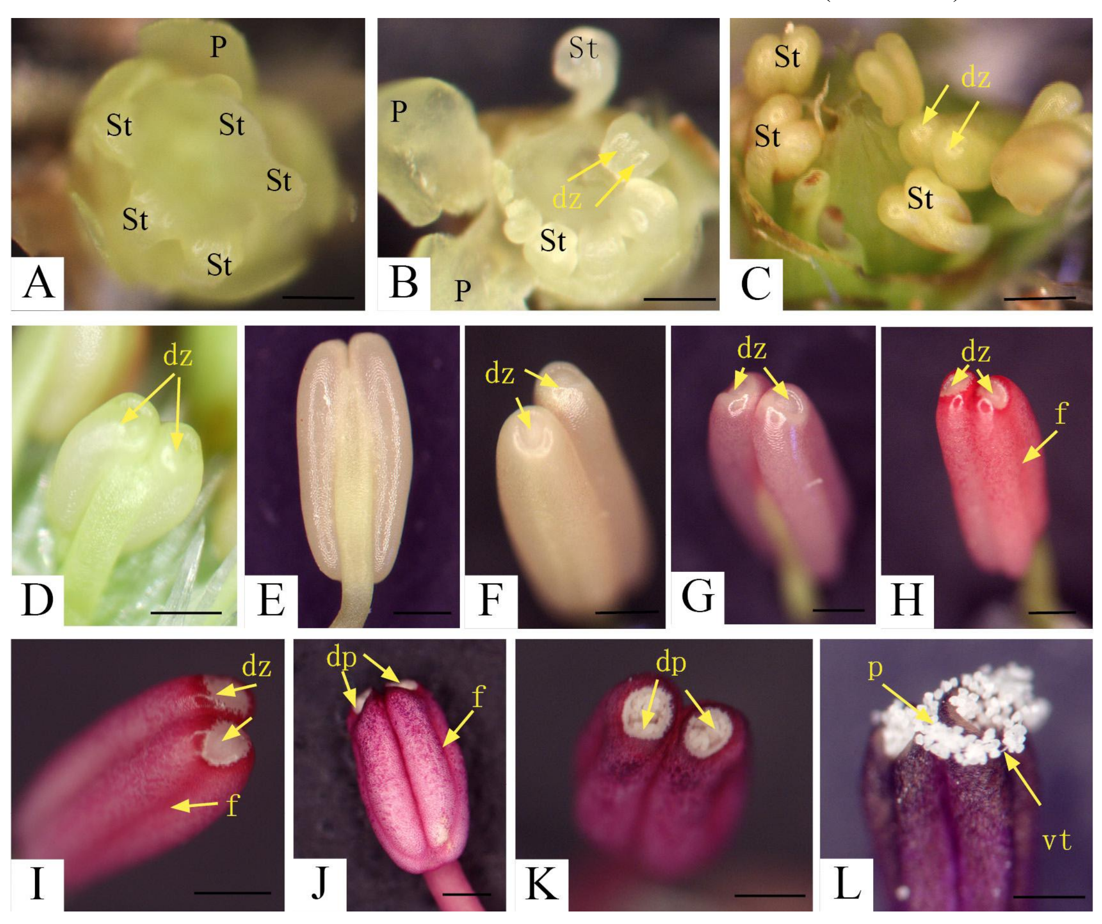
2 结果与分析

2.1 锦绣杜鹃雄蕊发育的外部形态观察

锦绣杜鹃雄蕊从发生到成熟的整个发育过程形态变化如图 1 所示(图 1：A-L)。当花瓣原基发育为半圆形时，雄蕊原基开始发生(图 1：A)。雄蕊原基的发生为 2/5 式，先有 5 个原基按顺时针或逆时针方向发生，形成一圈(图 1：A)，然后在之前发生的 5 个原基的间隙再发生一轮，最后 10 个雄蕊原基共同形成一圈(图 1：B，C)。雄蕊原基发生有先后，第二轮原基发生时，第一轮中最早的已分化出花丝和花药(图 1：B)。雄蕊原基发生时为小而扁的突起(图 1：A)，稍大即分化出上部膨大的花药和下部较细的花丝(图 1：B)，此时花药为基着药，花药与花丝连接为钩状，花药横向生长(图 1：B)。此后花丝向上生长，花药却转而向下生长并迅速增大，花药由最初的基着药(图 1：B)变为背着药(图 1：C，D，E), 着药点位于近顶部(图 1：C，D，E)。随着细胞分裂，花药向下向外生长，花粉囊逐渐膨大饱满，花丝被埋于两侧花粉囊之中(图 1：F, G, H, I), 颜色也逐渐加深，最初为近透明(图 1：B，C，D)，而后变为白色(1：E，F)，再变为粉色(图 1：G，H，I), 直至成熟时花粉囊为紫色(图 1：J，K，L)。早期构成花药的左右两侧如圆棒状，发育过程中同侧的两个花粉囊都发育增大，从而各自产生一个纵沟(图 1：H，I，J，L)，最终雄蕊在外形上呈现四个可明显分辨的花粉

囊。

成孔区在雄蕊上的出现很早，雄蕊原基刚分化出花药时顶端就出现两个凹陷，即将来的成孔区(图 1：B)，此后自始至终存在于花药顶端。起初因整个花药无色，成孔区(dz)仅表现为凹陷(图 1：D，E，F)，随着花粉囊颜色加深，成孔区越来越明显，可以明显看出成孔区与周围花药壁有不同的组织构成(图 1：G，H，I)。花药成熟时整个花药无纵裂口，仅顶部成孔区组织分解，成为散粉孔(dp)(图 1：J，K)，白色花粉（p）从散粉孔向外“吐出”(图 1：L)，且花粉间有很细的粘丝使花粉相连，因此花粉成团粘在散粉孔周围(图版 1：L)。



A. 花顶端第一轮雄蕊原基刚刚发生； **B**. 第二轮雄蕊原基发生，第一轮已分化出花药和花丝，花药顶端具两个浅的凹陷； **C**. 所有雄蕊都已分化，花药顶端具两个凹陷的成孔区； **D**. 单个幼嫩花药，成孔区在顶端，花药向下发育而倾斜； **E**. 发育中的雄蕊背面观，示背着药，着药点靠近顶部； **F-H**. 连续发育的花药，表皮颜色逐渐变红，成孔区逐渐明显，花粉囊外侧出现纵沟； **I**. 即将成熟的花药顶面观，示成孔区；**J**. 紫色的成熟花药，散粉孔已开；**K**. 成熟花药顶面观，散粉孔已开放，露出花粉；**L**. 已散粉的花药，花粉自散粉孔“吐出”，花粉被粘丝连接成团，粘在顶孔周围。 **St**. 雄蕊; **P**. 花瓣；**p**. 花粉；**dp**. 散粉孔；**dz**. 成孔区; **f**. 花粉囊发育后期产生的纵沟; **vt**. 花粉间的粘丝。 标尺=100 μm。

A. The first whorl of stamen primordia just initiated at the apex of the floral primordium; **B.** The second whorl of stamen primordia initiated, and the first whorl of stamens have differentiated into anthers and filaments, each with two shallow pits at the top of the anther; **C.** All stamens are differentiated, each with two small pits at the top of anther; D. Young stamen showing downward anther; **E**. Dorsal view of the developing stamen; **F-** H. Progressive development of the anther, showing gradually deepened and widened dehiscent zones; **I**. Top view of the anther about to mature, showing dehiscent zones; **J.** Mature anther with dehiscence pores; **K**. Top view of mature anther, showing pollen tetrads released from the dehiscence pore; **L**. Side view of mature anther, showing pollen tetrads linked by viscous threads and sticking around the dehiscence pores. **St**. Stamen; **P**. Petal; **p**. Pollen; **dp**.

Dehiscence pore; **dz**. Dehiscence zone；**f**. Furrow of pollen sac；**vt**. Viscous thread. Scale bars=100 μm.

图 1　　解剖镜下锦绣杜鹃雄蕊形态发育过程图

Fig. 1 Morphological development of stamen of *Rhododendron* × *pulchrum* under stereoscopes

2.2 锦绣杜鹃花药发育的解剖学研究

2.2.1　横切面上花药壁的发育与花粉的发育

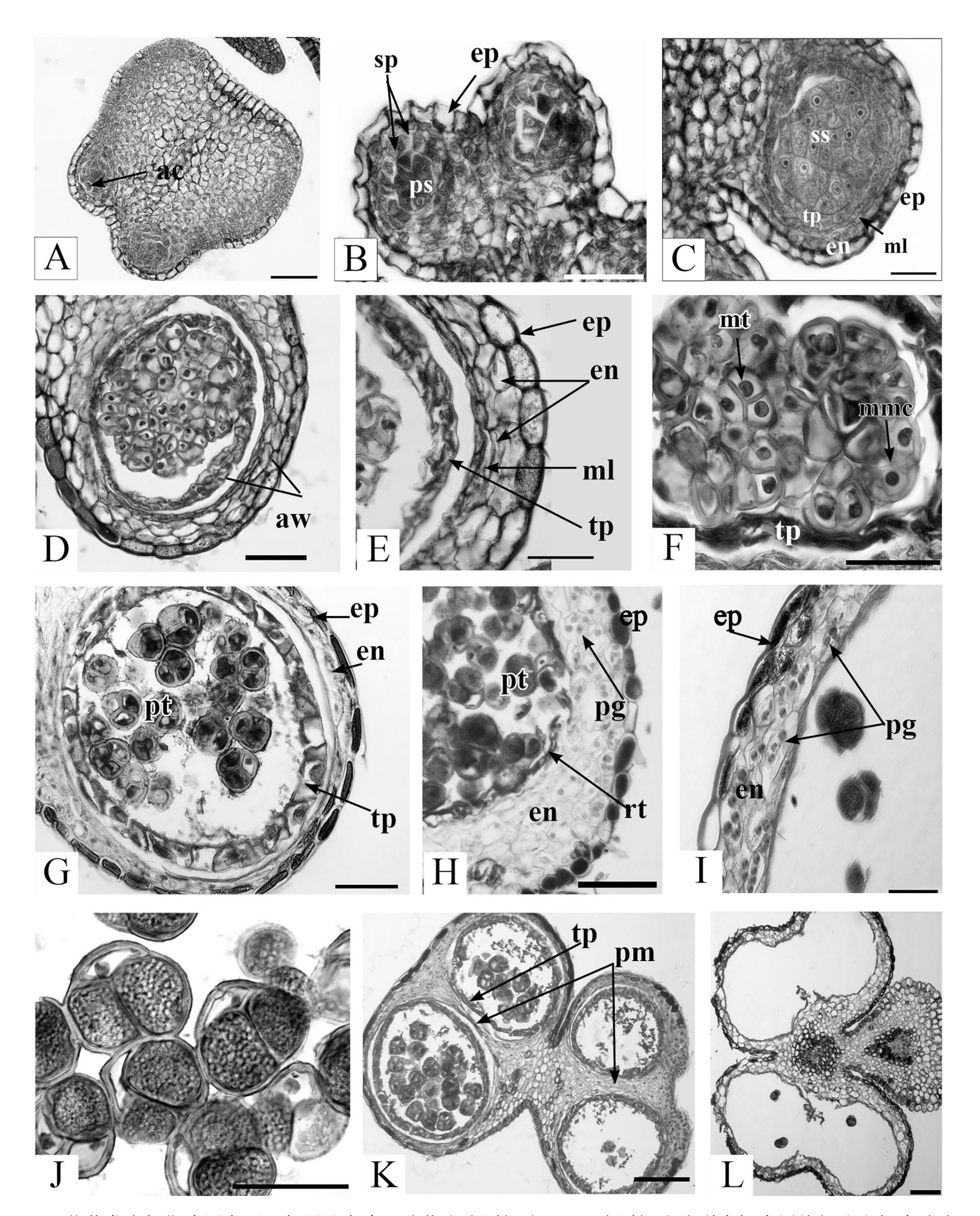
观察花药横切面，锦绣杜鹃的花药为四室花药。发育初期在四个角隅处表皮下分化出孢原细胞，孢原细胞比周围细胞体积稍大，细胞质浓厚(图 2：A)。孢原细胞进行一次平周分裂产生两层细胞：初生周缘细胞和初生造孢细胞(图 2：B)。初生周缘细胞再次分裂产生次生周缘细胞(图 2：B)，再经过数次平周分裂和垂周分裂形成多层花药壁；初生造孢细胞经过多次分裂形成次生造孢细胞(图 2：C)，次生造孢细胞胞质浓厚，紧密排列，形状为三角形或四角形等不规则形(图 2：C)。花药壁在次生造孢细胞时期分化出 4 层细胞，为一层表皮、一层药室内壁、一层中层和一层绒毡层(图 2：C)，表皮细胞体积较大，细胞壁较厚，有大液泡，其余几层细胞体积都很小，胞质较浓(图 2：C)。

造孢细胞继续发育成为小孢子母细胞。锦绣杜鹃的小孢子母细胞在药室内并不分散开，依然紧密排列，但细胞外生成厚的胼胝质以相互隔离(图 2：D，F)。小孢子母细胞进行减数分裂成为小孢子二分体和四分体(图 2：D)，此过程发生很快，所以一个药室内同时具有小孢子母细胞、二分体和四分体(图 2：D，F)，全部紧密排列在药室内。花药壁在造孢细胞时期并未发育完全，药室内壁和中层在小孢子减数分裂期间仍继续分裂，直至四分体前花药壁才分化完全，共有 6~7 层细胞，从外到内依次是 1 层表皮、2~3 层药室内壁、2 层中层和 1 层绒毡层(图 2：D，E)。表皮细胞较大，细胞壁较厚；药室内壁细胞比表皮细胞小；中层细胞最小而且扁平(图 2：　E)；绒毡层细胞大且胞质浓厚，与造孢细胞紧密连接而与中层分离(图 2：D，E)，因此绒毡层可能与造孢细胞同源而不来自于周缘细胞。

四分体形成后，四分体外部的胼胝质壁分解变薄，四分体与四分体之间相互分散(图 2：G)，但四分体内的四个小孢子并不从中释放出来，而是以四分体的形式共同发育，成为四合花粉。小孢子相邻的细胞壁紧密结合在一起形成花粉壁，构成复合花粉的基础(图 2：G)，每个小孢子从绒毡层吸收营养而迅速增大，成为单核花粉，然后再进行核分裂，成为二细胞的花粉，成熟花粉外壁具有颗粒状的纹饰，从而使整个小孢子四分体最终发育为四合花粉(图 2：J)。

在四分体发育为四合花粉的过程中花药壁发生复杂的变化。中层在小孢子减数分裂期间有 2 层细胞，但四分体完成后迅速分解，到四分体分散开时中层就已消失，因此中层存在时间非常短暂。中层分解后绒毡层开始分解，绒毡层为腺质绒毡层，在原位分解，为四分体内的小孢子发育提供营养，小孢子因此迅速长大成为单核花粉，而后再核分裂为二核花粉(图 2：G)。与此同时绒毡层向外推移，将药室内壁挤压为扁平状，紧贴表皮(图 2：G，J)。花粉发育完成时，绒毡层的营养尚未完全消耗，此时绒毡层紧贴药室内壁，为药室内壁提供营养，使其重新发育，细胞内积累多糖颗粒(图　2：H，I)。最终花药壁在散粉前由一层表皮和 2~3 层药室内壁构成，药室内壁细胞因积累多糖而加厚，具有韧性和弹性(图 2：H，I)。

锦绣杜鹃有四个药室，在横切面上呈蝶形(图 2：A)，左右各两个药室（即花粉囊）。横切面上同侧两个药室之间最初由薄壁组织分隔(图 2：A)，药室发育后，中层和绒毡层也构成药室之间的分隔部分(图 2：K)。此后中层和绒毡层先后分解(图 2：K)，然后薄壁组织也完全分解，最终同侧的两个药室在散粉前完全贯通成为一体(图　2：L)。接近顶部的花药横切面结构与整个花药不同，顶端没有正常的花药壁，仅由薄壁组织构成(图 3：H)，这部分为成孔区，组织分解后成为散粉孔。



A. 花药发育初期为四角形，角隅处表皮下分化出孢原细胞； B. 孢原细胞分裂为初生周缘细胞和初生造孢细胞，初生周缘细胞再分裂为两层次生周缘细胞； C. 次生造孢细胞时期，花药壁有四层细胞； D. 小孢子母细胞、二分体及四分体时期的一个药室，花药壁进一步分化为 6~7 层； E. 小孢子二分体和四分体时期分化完全的花药壁，具 1 层表皮，2~3 层药室内壁，1~2 层中层和 1 层绒毡层； F. 小孢子母细胞、二分体及四分体共同存在于同一药室内； G. 小孢子时期的花药，中层已消失，绒毡层原位分解并外移，药室内壁被压成扁平状； H. 四合花粉成熟时，绒毡层残余紧贴药室内壁，药室内壁积累多糖颗粒而增厚； I. 花粉成熟后散粉期的花药壁，有一层表皮和 2~3 层药室内壁，细胞内有多糖颗粒； J. 四合花粉； K. 四分体初期完整的四室花药，左右各二，同侧药室间以薄壁组织及绒毡层相隔；L. 散粉时完全成熟的花药，同侧的两个药室完全贯通，室间薄壁组织及绒毡层均已被分解吸收。**ep**. 表皮; **en**. 药室内壁; **ml**. 中层; **tp**. 绒毡层; **pm**. 薄壁组织; **aw**. 花药壁; **ac**. 孢原细胞; **ps**. 初生造孢细胞; **ss**. 次生造孢细胞; **sp**. 次生周缘细胞;

mmc. 小孢子母细胞; **mt**.小孢子四分体; **pt**. 四合花粉; **pg**.多糖颗粒; **rt**. 绒毡层残余 标尺=50 μm。

A. Early quadrangular anther, archesporial cells are initiated under the epidermis at the corner; **B**. Young anther with two layers of secondary peripheral cells and a few primary sporogenous cells; **C.** The anther wall consisting of four layers at the secondary sporogenous cell stage; **D**. Pollen sac in which microspore mother cells, dyads and tetrads coexist; **E**. The anther wall consisting of 6~7 layers at the microspore tetrad stage: 1 layer of epidermis, 2~3 layers of endothecia and 1~2 layers of middle layers and 1 layer of tapetum; **F**. Microspore mother cells, dyads and tetrads coexisting in one pollen sac; **G**. The microspores starting to develop and increase in size, the middle layer decomposed, and the tapetum starting to decompose and expanding outward; **H**. Anther wall about to mature, showing 2~3 layers of thickened endothecia and residue of tapetum; **I.** Anther wall when pollen tetrads released, with persistent endothecia; **J**. Pollen tetrads; **K**. Anther of the early pollen tetrad stage showing four pollen sacs, two on each side, separated by parenchyma and tapetum; **L**. Anther after pollen tetrads released, parenchyma separating two sacs has degenerated. **ep**. Epidermis; **en**. Endothecium; **ml**. Middle layer; **tp**. Tapetum; **pm**. Parenchyma; **aw**. Anther wall; **ac**. Archesporial cell; **ps**. Primary sporogenous cell; **ss**. Secondary sporogenous cell; **sp**. Secondary peripheral cell; **mmc**. Microspore mother cell; **mt**. Microspore tetrad; **pt**. Pollen tetrad; **pg**. Polysaccharide granule; **rt**. Residue of tapetum. Scale bars=50 μm.

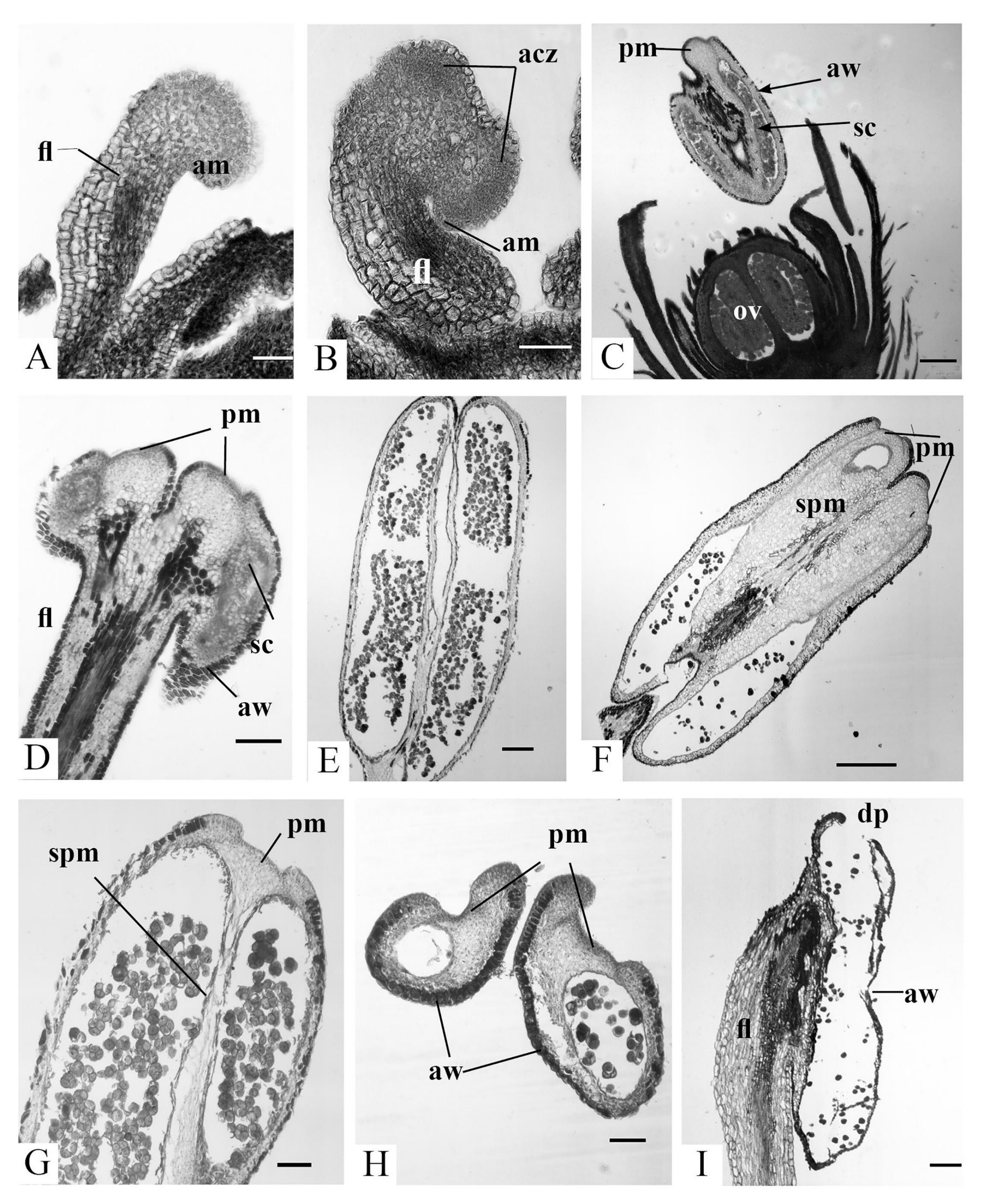
图 2 锦绣杜鹃花药发育过程(横切面)

Fig. 2 Anther development of *Rhododendron* × *pulchrum* (Transverse section)

2.2.2 纵切面上花药壁的发育

纵切面上观察，雄蕊原基首先分化出下部的花丝(图 3：A)，然后上部顶端分生组织进行分裂，外侧分裂较快，使原基顶端向内弯曲(图 3：A)。此时顶端分生组织细胞仍在分裂，顶端稍下的部分先分化出表皮，表皮内又有四团分生组织，其中即有孢原细胞 (图 2：B)。孢原细胞再进行细胞分裂，经多次分裂分化形成花药壁和造孢细胞(图 3：C, D)；顶端分生组织则分裂形成薄壁组织(图 3：C, D)。孢原细胞位于顶端分生组织以下，且生长方向向下，故薄壁组织始终位于花药顶端(图 3：C, D)。花药分为左右两个部分，各自向下向外生长；由于中部花丝的生长，最初的分生组织被分隔成左右两个薄壁组织区(即将来的成孔区)，位于左右花药的上端(图 3：C, D, F, G, H)。起初花药很小，顶端的薄壁组织位置高于花药((图 3：C, D)，但顶端薄壁组织先停止分裂，花药却持续发育，因此顶端薄壁组织所占比例越来越小，低于周围的花药壁，形成凹陷，即成孔区(图 3：F, G, H)。花粉成熟时，花药壁的中层和绒毡层分解消失，表皮和药室内壁仍然存在(图 3：I)；顶端成孔区仅有薄壁组织而没有花药壁，故薄壁组织分解后成为散粉孔(图 3：I)。

花药发育的早、中期在横切面上具有四个药室，但最终只有两个散粉孔（见前面的形态观察部分），这是因为花药的四个药室中，左右两侧每一侧的两个药室是以薄壁组织构成的室间隔相分离，二室的顶端为共同的薄壁组织构成的成孔区(图 3：G)。横切面上的花药结构除顶孔部位（图 3：H）外都是相同的，但纵切面上因所切角度不同有三种情况：一种切面不通过花丝和室间隔，能观察到左右完全两个分离的花粉囊(图 3：E)；一种通过花丝以及两侧花药的室间隔，显示的大部分是薄壁组织构成的室间隔(图 3：F)；还有一种只切到一侧花粉囊，显示的是同侧两个花粉囊被室间隔分隔，但上部有共同的薄壁组织区 (图 3：G)。起初室间隔的薄壁组织细胞较多，后来逐渐分解(图 3：G), 两室贯通成为一室，上端成孔区的薄壁组织分解后形成一个散粉孔(图 3：I)。此外，从近顶端的横切也可清楚看到顶端每侧花药具有一个薄壁组织区(图 3：H)。



A. 雄蕊原基，下部为花丝，上部为顶端分生组织，因外侧分裂较快而向内弯曲；**B**. 雄蕊原基顶端，示顶端分生组织和孢原区；**C**. 幼花纵切示花药和子房的相对位置，花药的生长方向向下；**D**. 幼嫩雄蕊纵切，顶端为薄壁组织，下方为造孢细胞时期的花药；**E**. 成熟花药纵切不通过花丝的部分，示左右两个分离的花粉囊纵切面；**F**. 成熟花药纵切通过花丝和室间隔的部分，示室间隔的薄壁组织及顶端的薄壁组织；**G**. 单侧花粉囊纵切，示单侧由室间薄壁组织分隔的两个花粉囊，顶端为共同的薄壁组织区；**H**. 花药顶部横切，左右花粉囊各具一个薄壁组织构成的成孔区；**I**. 单侧成熟花粉囊散粉后纵切，室间隔完全分解，两个花粉囊贯通为一室，顶端薄壁组织分解后成为散粉孔。**fl**.花丝; **ov**.胚珠; **aw**.花药壁; **am**. 顶端分生组织; **pm**. 薄壁组织; **spm**. 室间薄壁组织; **acz**. 孢原区; **sc**. 造孢细胞; **dp**. 散粉孔。A, B, C, F 中标尺=100μm D, E, G, H, I 中标尺=50 μm。

A. Stamen primordium, the lower part is filament, the upper part is apical meristem and it is curved inward because the outer side division is faster; **B**. Archsprorial cell zones under the epidermis; **C**. Longitudinal section of young flower showing the relative position of the anther and the ovary, and the top of anther is parenchyma; **D**. Young anther with parenchyma at the top and developing pollen sacs below; **E**. Longitudinal section of anther that

does not pass through the filament and septal parenchyma, showing two separate pollen sacs; **F**. Longitudinal section of anther that passes through the filament and the septum, showing mostly the septal parenchyma and apical parenchyma; **G**. Longitudinal section of anther that passes through the two pollen sacs on one side, showing two pollens sacs separated by septal parenchyma and sharing same apical parenchyma; **H**. Transvers section of the top of anther, showing two parenchyma zones at the top; **I**. Longitudinal section of pollen sac after pollen tetrads released, showing dehiscence pore. **fl.** filament; **ov**. ovule; **aw**. anther wall; **am**. apical meristem; **pm**. parenchyma; **spm**. septal parenchyma; **acz**. archesporial cell zone; **sc**. sporogenous cell; **dp**. dehiscence pore. Bars in A, B, C, F =100 μ m Bars in D, E, G, H, I =50 μ m.

图 3 锦绣杜鹃花药发育过程(纵切)

Fig. 3 Anther development of *Rhododendron* × *pulchrum* (longitudinal section)

3 讨论与结论

3.1. 锦绣杜鹃花药发育的特征

过去有不同学者对杜鹃花科的雄蕊发育进行过研究，发现它们具有一些共同特征，主要有腺质绒毡层、药室内壁无纤维化和带状加厚以及四合花粉(Matthews & Knox, 1926; Bowers, 1930; Copeland, 1943; Davis, 1966; Hermann & Palser, 2000; 高连明等，2002)，此外其中的杜鹃花亚科 Rhododendroideae 有一个区别于其他亚科的特征是花粉间具有粘丝 (Matthews & Knox, 1926; Bowers,1930; Copeland, 1943; Waha, 1984; Hesse, 1986; Clemants, 1995)。不同类群间的差异主要在花药壁的构成，报道的花药壁层数从 2 层到 4 层(Chou, 1952; Batygina et al., 1963; Budell, 1964; Yakobson，1968; Hermann & Palser, 2000)，尤其药室内壁的差异较大，有的甚至认为某些种类没有分化完全的药室内壁(Chou,1952; Davis, 1966)。

本研究中观察到的一些结果与过去学者对杜鹃花科的研究结果相同，如腺质绒毡层、花药内壁无纤维化和带状加厚、具有四合花粉以及花粉间具有粘丝等，但花药壁的发育尤其是药室内壁的发育却与前人的研究结果不尽相同。本研究发现锦绣杜鹃的药室内壁在各阶段持续发育和变化，不同时期观察到的药室内壁层数和形态不同，至少可以观察到四种不同的情况：一是造孢细胞时期药室内壁仅有一层，且细胞较小；二是在小孢子减数分裂期间具有 2~3 层药室内壁细胞，此时药室内壁之外还有 2 层中层；三是花粉发育期间绒毡层向外推移，药室内壁被挤压成扁平状，此时中层已分解消失，药室内壁紧贴绒毡层；最后一种情况是散粉前药室内壁细胞内积累多糖颗粒，从而使药室内壁重新加厚。过去对杜鹃花科报道的花药壁层数从 2 层到 4 层不等(Chou, 1952; Batygina et al., 1963；Budell, 1964；Yakobson，1968; Hermann & Palser, 2000)，有的报道甚至认为没有发育完全的药室内壁，这种差异可能是种属间的系统差异，也有可能是因为没有观察到药室内壁的各种情况，有的作者也提到自己可能没有观察到全部情况(Chou, 1952)。张玉红(2014)和戴利燕(2018)对杜鹃属的另一常见种杜鹃(映山红) *Rh. simsii* 雄蕊发育的研究中也都观察到药室内壁在花药成熟时积累多糖，至少这一点是一个稳定的特征。

关于绒毡层的来源，过去有的研究认为杜鹃花科的绒毡层来源于周缘细胞，有的则认为绒毡层与造孢细胞同源(Davis,1966)。本研究中锦绣杜鹃早期绒毡层与造孢细胞紧密结合而与花药壁的其他几层细胞分离，因此我们推断其与造孢细胞同源，张玉红(2014)对杜鹃的研究也认为绒毡层与造孢细胞同源。由于后期绒毡层又向外推移与药室内壁紧贴，为药室内壁提供营养，所以如果仅观察到后期则会认为绒毡层来源于周缘细胞。

此外过去有些研究发现杜鹃花科许多种的雄蕊在早期发育时有生长方向的倒转，花药从发生时的基着药转变为后来的背着药(Artopoeus, 1903；Matthews & Knox, 1926；Hermann &

Palser, 2000)。本研究从形态观察到了这一现象，从纵切的解剖结果显示这是因为孢原组织发生于分生组织的下方且向下生长所致。

3.2 散粉孔的发生、发育过程和散粉机制

通过对锦绣杜鹃各个时期花药的形态观察和横向与纵向的石蜡切片，可以得出其顶端散粉孔的形成过程: 锦绣杜鹃花药顶端的成孔区由薄壁组织构成，薄壁细胞分解成为散粉孔，而薄壁组织来源于雄蕊原基早期的顶端分生组织；花药的主体部分则由孢原细胞发育而来，孢原发生于分生组织下方且发生后向下生长，经多次分裂分化后发育为花粉囊，花粉完全成熟时花药壁保留表皮和 2~3 层药室内壁。也就是说，形成散粉孔的成孔区与花药其余部分在雄蕊发育的早期即已发生分异。此前也有学者(Artopoeus，1903；Hermann & Palser，2018)认为杜鹃花科的散粉孔来源于分生组织，本研究再次证实了这一推测。

普通纵裂型花药中，花药纵裂一般涉及到三个不同的组织和过程——绒毡层分解、药室内壁纤维化和裂口形成，花药发育过程中中层和绒毡层先后分解消失，药室内壁的内切向壁和横向壁纤维加厚，但在两花粉囊之间的交界处有几个不加厚的细胞，称为“唇细胞”(横切面上几个，纵向成列)，花药成熟时由此开裂形成裂缝(丁泽琴等，2013；周云龙和刘全儒，2004)。简而言之，唇细胞是在花药发育的后期才与其他药室内壁细胞产生差别，早期是与药室内壁细胞同源的一类细胞。可见锦绣杜鹃的孔裂和普通纵裂的发生机制有很大的差别，不但是发生部位的差别，而且有发生时期和组织细胞的差别。

此前学者对杜鹃花科花药孔裂机制的研究，一般认为与两种组织有关，一种叫做吸收组织(resorption tissue),另一种叫做塌陷组织(collapse tissue)或萎缩组织(shrink tissue) (Artopoeus 1903；Maclachlan，1929; D’Arcy, 1996; Hammer & Palser, 2018)。这两种都是薄壁组织，前者的细胞可以吸收草酸钙等无机盐形成晶体，形成大的囊袋，细胞破裂后释放晶体，形成散粉孔，而萎缩组织不吸收无机盐，只是细胞缩小萎缩，形成散粉孔。本研究中，锦绣杜鹃花药成孔区的细胞既没有积累晶体形成囊袋也并没有发生萎缩塌陷，而是分解消失，因此我们还是将其称为更广义的薄壁组织。

纵裂的花药只要花药壁裂开，花粉就可自然散出，而顶孔开裂的花药，其散粉孔位于顶端，故若无特殊机制花粉难以从顶孔散出。本研究发现锦绣杜鹃花药壁的一些发育特征适应于顶孔开裂。首先锦绣杜鹃的花药壁有 2~3 层药室内壁，且成熟时并不发生纤维化，反而在花粉成熟前积累多糖而加厚，这使花药壁保持完整并增加了厚度、韧性和弹性。其次，锦绣杜鹃的花粉为四合花粉且花粉间具有粘丝。我们推测多层药室内壁使花药壁增厚，积累多糖后进一步加厚且具有一定弹性，这使得花粉囊内部空间缩小，从而将上部的花粉从顶孔“挤出”，这与我们在解剖镜下看到花粉从散粉孔“吐出”一致；而四合花粉间的粘丝使花粉粘连成团，在蜜蜂传粉时可以被成团带出，弥补了散粉孔位于顶端造成的散粉困难。最后，绒毡层早期为小孢子发育提供营养，后期外移，为药室内壁提供营养，使药室内壁再次发育增厚，这也是其适应顶孔散粉的一个发育特征。

总之，本研究表明锦绣杜鹃的散粉孔来源于顶端特殊的成孔区，成孔区由薄壁组织构成，分解后成为散粉孔；锦绣杜鹃的花药壁有多层药室内壁，药室内壁细胞于花粉成熟前积累多糖而使花药壁加厚，具有四合花粉且花粉间具粘丝等都是与孔裂相适应的特征，能促进花粉从顶孔散出。

参考文献

DAI LY, 2018. Study of histological and cellular anatomy of pistils and other floral parts of *Rhododendron simsii* [D]. Ganzhou: Gannan Normal University [戴利燕, 2018. 杜鹃

(*Rhododendron simsii*) 雌蕊及其它花部发育的组织细胞解剖研究[D]. 赣州：赣南师范大学：22-25.]

DING ZQ, WANG ZM, NIU Y, et al., 2013. Research progress on plant anther dehiscence Mechanism [J]. China vegetables, 2013(8)12-18. [丁泽琴，王志敏，牛义，等，2013. 植物花药开裂机制研究进展[J]. 中国蔬菜，1（8）：12-18.]

GAO LM, ZHANG CQ, LI DZ, et al., 2002. Pollen morphology of the Rhodoreae (Ericaceae) and its systematic implication[J]. Acta Botanica Yunnanica, 24(4): 471-482. [高连明，张长芹，李德铢, 等, 2002. 杜鹃花族花粉形态及其系统学意义[J]. 云南植物研究，24(4):472-482.]

HU SY, 2005. Reproductive biology of angiosperms. Beijing: Higher Education Press: 286[M]. [胡适宜，被子植物生殖生物学[M]. 2005. 北京：高等教育出版社：286]

LI ZL, 1987. Plant slice production technology [M]. Beijing: Science press: 130-139.[李正理，植物制片技术[M]. 1987. 北京：科学出版社:130-139.]

MA WL, 2015, Botany (2ed) [M]. Beijing: Higher education press: 240. [马炜梁，植物学(第二版)[M]. 2015. 北京：高等教育出版社:240.]

MH H, LI TQ, LIU XF, et al., 2017. Research progress in conservation biology of *Rhododendron*, World Forestry Research[J]. 30(4):13-17. [马宏，李太强, 刘雄芳，等，2017. 杜鹃属植物保护生物学研究进展[J]. 世界林业研究，30(4):13-17.]

ZHANG YH, 2014. The histochemical and ultrastructural study of anther development in *Rhododendron* L.［D］. Xiamen：Xiamen University:1-63. [张玉红. 2014. 杜鹃花药发育的组织化学及超微结构的研究. 厦门大学:1-63.]

ZHOU YL, LIU QR, 2004. Plant biology (2nd ed.) [M]. Beijing: Higher education press：196. [周云龙，刘全儒，2004. 植物生物学（第二版)[M] 北京：高等教育出版社：196.]

ARTOPOEUS A，1903. Uber den Bau und die Öffnungsweise der Antheren und die Entwickelung der samen der Erikaceen[J]. Flora, 92: 309–345.

BATYGINA TB, TERIOKHIN ES, ALIMOVA GK, et al., 1963. Genesis of male sporangia in families Gramineae and Ericaceae[J]. Botanicheskii Zhurnal, 48:1108–1120. (Russian with English summary).

BATYGINA TB, 2002. Embryology of flowering plants: Terminology and concepts. Generative organs of flowers, 1st ed.[M]. Science Pub Inc., Enfeld

BOWERS CG, 1930. The development of pollen and viscin strands in *Rhododendron catawbiense*[J]. Bull Torrey Bot Club, 57: 285–313.

BUDELL B, 1964. Untersuchungen der Antherenentwicklung einiger Blütenpflanzen[J]. Z Botanik, 52: 1–28.

CLEMANTS SE, 1995. *Bejaria* Mutis ex Linnaeus. In J. L. Luteyn [ed.] [M], Ericaceae—Part II. The superior-ovaried genera (Monotropoideae, Pyroloideae, Rhododendroideae, and Vaccinioideae p.p.), 54–106. Flora Neotropica Monograph 66. New York Botanical Garden, Bronx, New York, USA.

CHOU YL, 1952. Floral morphology of three species of *Gaultheria*[J]. Bot Gaz. 114: 198–221.

COPELAND HF, 1943. A study, anatomical and taxonomic, of the genera of Rhododendroideae. Am Midl Nat, 30: 533–625.

CORTEZ PA, CAETANO APS, CARMELLO-GUERREIRO SM, et al., 2014. Elucidating the mechanism of poricidal anther dehiscence in *Miconia* species (Melastomataceae) [J]. Flora 209 (10): 571–579.

D'ARCY WG, KEATING RC, BUCHMANN SL, 1996. The calcium oxalate package or so called

resorption tissue in some angiosperm anthers[M]. In: D'Arcy, WG, Keating, RC (Eds.), The anther: form, function and phylogeny. Cambridge, UK: Cambridge University Press: 159–191.

DAVIS GL, 1966. Systematic embryology of the angiosperms[M]. New York，USA：John Wiley and Sons：1-528.

ENDRESS PK, 1996. Diversity and evolutionary trends in angiosperm anthers[M]. In: W G D'Arcy and Keating RC, [eds.], The anther: form, function and phylogeny. Cambridge, UK : Cambridge University Press: 92–110.

FANG M, FANG R, HE M, et al., 2005. *Rhododendron* [M]. In: WU CY, RAVEN PH, HONG DY [eds.] Flora of China, Beijing: Science press, 14: 242-455.

GARCÍA CC, MATESEVACH M, BARBOZA G, 2008. Features related to anther opening in *Solanum* species (Solanaceae)[J]. Bot J Linn Soc, 158: 344–354.

HERMANN PM, and PALSER BF, 2000. Stamen development in the Ericaceae. I. anther wall, microsporogenesis, inversion, and appendages[J]. Amer J Bot, 87(7): 934–957.

HERMANN PM and PALSER BF, 2018. Stamen development in the Ericaceae. II. Granular pouches and dehiscence[J]. Flora, 239: 122-140.

HESSE， 1986. Nature, form and function of pollen-connecting threads in angiosperms[M]. In BLACKMORE S and FERGUSON IK [eds.], Pollen and spores: form and function. Orlando, Florida, USA, Academic Press: 109–118.

HUFORD LD, ENDRESS PK, 1989. The diversity of anther structures and dehiscence patterns among Hamamelididae[J]. Bot J Linn Soc, 99: 301–346.

MACLACHLAN CM, 1929. The structure of certain poricidal anthers[J]. Trans Proc Bot Soc Edinb, 30: 104–122.

MARAZZI B, CONTI E, ENDRESS PK, 2007. Diversity in anthers and stigmas in the buzz-pollinated genus *Senna* (Leguminosae, Cassiinae)[J]. Int J Plant Sci, 168(4): 371–391.

MATTHEWS JR, and KNOX EM, 1926. The comparative morphology of the stamen in the Ericaceae[J]. Trans Proc Bot Soc Edinb, 29: 243–281.

REAPE TJ, MOLONY EM, MCCABE PF, 2008. Programmed cell death in plants: distinguishing between different modes[J]. J Exp Bot, 59: 435–444.

RENNER SS, 1989. A survey of reproductive biology in neotropical Melastomataceae and Memecylaceae[J]. Ann Mo Bot Gard, 76(2): 496–518.

WAHA M, 1984. Zur Ultrastruktur und Funktion pollenverbindender Fäden bei Ericaceae und anderen Angiospermenfamilien [J]. Plant Syst Evol, 147: 189–203. (German with English summary).

YAKOBSON LY, 1968. Structure and development of *Rhododendron* L. anthers[J]. Izv Akad Nauk Latv SSR, 12: 101–109. (Russian with English summary).